

ポリアミノカルボン酸を用いる液体クロマトグラフィーによるカルシウム及びランタノイドの分離検出特性

著者	許 文?
号	1972
発行年	1996
URL	http://hdl.handle.net/10097/7245

	Xu Wen-zhe
氏 名	許 文喆
授 与 学 位	博士(工学)
学 位 授 与 年 月 日	平成9年3月25日
学位授与の根拠法規	学位規則第4条第1項
研究科, 専攻の名称	東北大学大学院工学研究科(博士課程)材料化学専攻
学 位 論 文 題 目	ポリアミノカルボン酸を用いる液体クロマトグラフィーによるカルシウム及びランタノイドの分離検出特性
指 導 教 官	東北大学教授 四ツ柳隆夫
論 文 審 査 委 員	主査 東北大学教授 四ツ柳 隆夫 東北大学教授 奥脇 昭嗣 東北大学教授 富田 彰

論文内容要旨

第1章 序論

本章では、序論として本研究の背景と本研究の目的を述べている。

高性能液体クロマトグラフィー(HPLC)は、マトリックス分離達成による高感度、高精度な計測法として、現在微量金属イオンの計測システムとして注目されている。HPLCによる金属イオンの計測システムには、溶離液に試薬を添加しない方式がある。このシステムは、ベースラインが安定で、また、バックグラウンドなしの状態での測定でき、高感度性を持つ。一方、錯体と過剰の試薬とがカラムによって分離されるため、置換不活性な錯体だけが検出されるという特徴を有する。従って、このシステムは速度論的識別モード HPLC (KD-HPLC)と呼ばれている。しかし、ランタノイド(Ln^{3+})及びカルシウム(Ca^{2+})イオンのような置換反応活性な錯体を形成するものに対して適用が困難とされていた。

そこで本研究は、 Ca^{2+} 、 Ln^{3+} 金属錯体の KD-HPLC 用試薬を見出すことと、これらの金属錯体の解離反応速度論に関する新しい知見を獲得することを目的とした。本研究の目的を達成することによって、KD-HPLC で測定できる金属イオンの種類が増やされ、このシステムをより汎用性に富むものとして構築することができる。さらに、その成果は、今後このシステムの検出できる金属イオンの更なる拡張に関して希望を与えるものとなる。

第2章 芳香族ポリアミノカルボン酸ーランタノイド錯体の速度論的識別モード高性能液体クロマトグラフィー(KD-HPLC)

芳香族ポリアミノカルボン酸 Quin2 (2-[(2-amino-5-methylphenoxy)methyl]-6-methoxy-8-amino-quinoline-N,N,N',N'-tetraacetic acid)(Fig. 1)は, Ln^{3+} 金属イオンのエネルギー移動発光配位子で, Ln^{3+} 金属イオンと非常に安定な錯体を形成する. またその錯体の発光特性は光に対して非常に安定である. しかし, Quin2は遊離試薬の状態では安定性に欠け, または試薬の蛍光バックグラウンドが非常に大きいといった致命的な欠陥がある. そのため, この試薬を Ln^{3+} 金属イオンの直接蛍光光度分析試薬として使用することが困難であった. そこで第2章では, Quin2のようなポリアミノカルボン酸多座配位子と Ln^{3+} 金属イオンとの錯体の解離反応の速度論的特性を考慮して, Quin2をKD-HPLCに導入することを提案した. その結果, Ln^{3+} 金属錯体が置換反応活性であるという常識に反して, すべての Ln^{3+} -Quin2錯体がKD-HPLCにおいて検出され, 十分置換不活性であることが明らかとなった. この成果によって, Ln^{3+} 金属イオンのKD-HPLCによる検出の途が開かれた. また, 緩衝液成分である HTris⁺ (Tris(hydroxymethyl)-aminomethan) がイオン対HPLCにおいて対イオンとして機能することを発見した. このような親水性の高いカチオンは, イオン対溶媒抽出においては対イオンとして機能しないが, イオン対HPLCにおいて優れた分離特性を有するものであった. さらに, Quin2の持つエネルギー移動発光及び配位子による発光機能をそれぞれ利用して, Eu^{3+} , La^{3+} 及び Lu^{3+} のKD-HPLCによる選択的蛍光定量を試み, それらの金属イオンの選択的な蛍光定量法の開発に成功した.

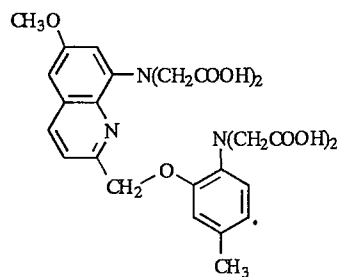


Fig. 1 Chemical structure of Quin2

第3章 KD-HPLCにおけるポリアミノカルボン酸—ランタノイド錯体の分離検出機構

この章では Eu^{3+} -Quin2 錯体をモデル錯体として用い, KD-HPLCにおける Ln^{3+} -Quin2 錯体の検出機構について検討を行った. EDTAによる配位子置換反応及び Yb^{3+} による金属置換反応を行い, 均一溶液での錯体の解離反応速度論を検討した. 錯体のHPLCプロセスにおける解離挙動は, オンカラム解離法を用いて検討した. 均一水溶液でのEDTAによる配位子置換反応の見かけ速度定数 k_{obs} はEDTA濃度に依存するものと依存しないものの2つの項から成り立っている. EDTA濃度に依存しない速度過程の速度定数, 即ち錯体の加溶媒分解反応の速度定数は, pH 7において $1.29 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ であった. この小さい値自体は中性付近での Eu^{3+} -Quin2 錯体の解離不活性特性を示すものであった. この速度定数を用いて Eu^{3+} -Quin2 錯体の解離度を計算すると加溶媒分解反応の半減期が1.49時間という結果を得た. しかし, オンカラム解離法を用いて Eu^{3+} -Quin2 錯体のオンカラム解

離挙動を観察した結果、保持時間 1.3 時間まで錯体の解離がまったく観測されなかった。使用している溶離液と同じ組成の 9 wt%メタノール-水混合溶媒での EDTA による配位子置換反応を検討した結果、錯体の加溶媒分解反応の速度定数が $7.17 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ であって、水溶性有機溶媒の添加によって錯体の解離が遅くなることが明らかとなった。だが、それでも HPLC における錯体の不活性特性に十分な根拠を与えるほどではなかった。これは、有機溶媒が多量にある固定相という疎水的な「場」が錯体の解離を抑制したと考えることで説明できる。これらの結果から、第 2 章で得た Ln^{3+} -Quin2 錯体の KD-HPLC 溶離挙動を理解できた。さらに Eu^{3+} -Quin2 錯体のエネルギー移動発光を利用して、錯体の Yb^{3+} による金属置換反応を試みた。その結果、錯体の解離過程において酸触媒反応が含まれることが明らかとなった。

第 4 章 KD-HPLC における芳香族ポリアミノカルボン酸-カルシウム錯体の溶離挙動とそのカルシウム定量への応用

Quin2 溶液だけを KD-HPLC に注入すると常に 2 つのピークが出現し、その中の 1 つがカルシウム汚染によるものが明らかとなった。また、バッチ溶液における Ca^{2+} -Quin2 錯体の吸収スペクトルが HPLC で得たものと一致することから、カルシウムは KD-HPLC において Ca^{2+} -Quin2 錯体として検出されていることが分かった。さらに、 Ca^{2+} -Quin2 錯体のオンカラム解離挙動から、少なくとも保持時間が 23 分まで錯体の解離が認められなかった。しかし、 Ca^{2+} -Quin2 錯体は均一溶液で置換活性であることが確認された。 Ca^{2+} -Quin2 錯体が KD-HPLC で解離不活性挙動を示すことを利用して、KD-HPLC による Ca^{2+} イオンの蛍光定量法の開発を試みた。得られた蛍光検出検量線は 10^{-6} M から $8 \times 10^{-5} \text{ M}$ までの範囲で非常に直線性の良いもので、検出限界は $1.7 \times 10^{-7} \text{ M}$ ($\text{S/N} = 3$) であった。 Ca^{2+} -Quin2 錯体が極めて高い蛍光量子効率を持つことから、今後 Ca^{2+} 汚染を除去することによって、KD-HPLC での Ca^{2+} の高感度定量法の確立が期待できる。

第 5 章 カルシウム及びランタノイドイオンに対する KD-HPLC 用試薬としてのポリアミノカルボン酸配位子の探索と展開

Ca^{2+} -Quin2 及び Ln^{3+} -Quin2 錯体の KD-HPLC 溶離挙動から、これらの金属イオンの KD-HPLC 試薬の分子設計指針を得るため、ポリアミノカルボン酸配位子を中心に試薬の探索を行った。その結果、用いたポリアミノカルボン酸配位子 EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid), EGTA (o,o'-Bis(2-aminoethyl)ethyleneglycol-N,N,N',N'-tetraacetic acid), CyDTA (trans-1,2-Diaminocyclohexane-N,N,N',N'-tetraacetic acid), BAPTA

(o,o'-Bis(2-aminophenyl)ethyleneglycol-N,N,N',N'-tetraacetic acid), 及び 5FBAPTA (o,o'-Bis(2-amino-5-fluorophenoxy)ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid)(Fig. 2)は, Ca^{2+} や Ln^{3+} との錯体が KD-HPLC において検出され, これらの金属イオンの KD-HPLC 用試薬であることが明らかとなった. この成果は, 水-有機混合溶媒である移動相と疎水的固定相とが織りなす KD-HPLC という'場'において, ポリアミノカルボン酸配位子が持っている1つの機能というべきものを見出したものであった. これらの知見に基づき, ポリアミノカルボン酸骨格に, 目的に合わせてさまざまな官能基を導入すれば, Ca^{2+} , Ln^{3+} イオンの KD-HPLC 用試薬の広範な分子設計ができる.

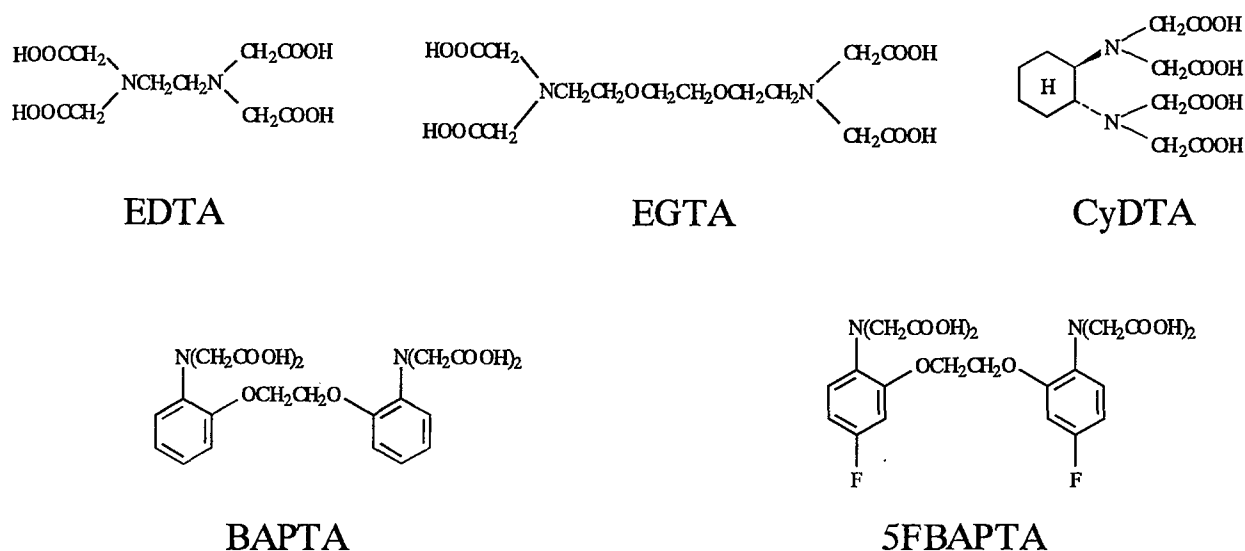


Fig.2 Chemical structure of EDTA, EGTA, CyDTA, BAPTA, and 5FBAPTA.

第6章 総括

本章では, 本研究で得られた主な結果をまとめた.

KD-HPLC システムは, ランタノイド及びカルシウムイオンのような置換反応活性な錯体を形成するものに対して適用が困難とされていた. 本研究はポリアミノカルボン酸配位子を用いてこの問題を解決したものである. 本研究に用いた配位子は既存の試薬であるが, Ca^{2+} , Ln^{3+} 金属イオンの優れた KD-HPLC 試薬として機能することを本研究で発見した. このことから, 物質の持つ機能を発現させる'場'を発見することがいかに大事なことであるかを示唆している. 本論文では, ポリアミノカルボン酸が持つ上述の機能の発見と, その成果に基づき, KD-HPLC がより汎用性に富む金属イオン計測システムであることを明らかにすることができた.

審査結果の要旨

速度論的識別機能を持つ高性能液体クロマトグラフィー (KDモード-HPLC) は、微量金属イオンの高感度かつ高選択的計測システムとして注目されている。しかし、このシステムは、カルシウム及びランタノイドイオンのような置換反応活性な錯体を形成する金属イオンに対しては適用が困難とされてきた。この論文はポリアミノカルボン酸を配位子として用いてこの問題を解決し、KD-HPLCに対して新しい可能性を開拓した成果をまとめたものであって、全編6章からなる。

第1章は序論であって、本論文の目的と意義について述べている。

第2章では芳香族ポリアミノカルボン酸である2-[2-amino-5-methylphenoxy)methyl]-6-methyl-8-amino-quinoline-N,N',N'-tetraacetic acid (Quin2)のランタノイド錯体のKD-HPLC挙動を研究し、この配位子が置換反応不活性な錯体を形成することを見出している。さらに、その錯体のエネルギー移動発光特性(Eu^{3+})と配位子発光(La^{3+} ,及び Lu^{3+})を利用して、これらのイオンの高感度定量法を提案している。

第3章では KD-HPLC におけるランタノイド錯体の速度特性について検討し、その配位子置換反応が、加溶媒分解過程 (pH 7 における速度定数は $1.29 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$)とポリアミノカルボン酸濃度に依存する過程とからなる二項速度則によって記述できること、固定相の疎水場が錯体の解離を抑制する効果を持つこととを明らかにしている。

第4章ではカルシウム-Quin2錯体がKD-HPLCシステムにおいて検出可能であることを発見し、その蛍光を利用して検出限界 $1.7 \times 10^{-7} \text{ M}$ に達するCaイオンの定量法を開発することに成功している。これは置換活性な錯体をKD-HPLCで検出した最初の例である。

第5章では Quin2 以外のポリアミノカルボン酸に探索の範囲を広げて、カルシウム及びランタノイドイオンにおいて観察された速度特性がポリアミノカルボン酸配位子に共通の物性であることを確認し、KD-HPLCシステムにおける適用試薬設計の指針を明らかにしている。

第6章は総括である。

以上要するに本論文は、速度論的識別モード高性能液体クロマトグラフィーによってカルシウム及びランタノイドイオンに対する新しい高感度計測法の開発に成功したものであって、分離分析化学及び材料化学の発展に貢献するところ少なくない。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として合格と認める。